

PLACE DU TEST DE PERMUTATION DANS LES MODÈLES NON LINÉAIRES À EFFETS MIXTES : APPLICATION EN PHARMACOGÉNÉTIQUE

Julie Bertrand¹ & Emmanuelle Comets¹ & Céline M. Laffont² & Marylore Chenel³ & France Mentré¹

¹ UMR738, Inserm, Paris, France; Université Paris Diderot, Paris, France

² UMR181, Physiologie et Toxicologie Expérimentales INRA, ENVT, Toulouse, France

³ Institut de Recherches Internationales Servier, Courbevoie, France

La pharmacocinétique étudie le devenir du médicament dans l'organisme. Les principaux tests pour détecter l'existence d'un effet gène sur un paramètre pharmacocinétique dans les modèles non linéaires à effets mixtes sont i) un test de Wald sur les coefficients estimés par le modèle avec la covariable génétique et ii) un test du rapport de vraisemblance (LRT) entre les modèles avec et sans la covariable. Nous avons évalué le test de Wald et le LRT par une étude de simulation inspirée de données réelles en utilisant l'algorithme d'estimation exact SAEM. Nous avons aussi évalué la correction par simulation et son alternative non-paramétrique : le test de permutation. Sur de petits échantillons avec des groupes déséquilibrés, on observe une inflation de l'erreur de type I des tests asymptotiques communément employés. La correction par permutation semble appropriée lorsque l'algorithme d'estimation ne pose pas de limites en termes de convergence et/ou de temps de calcul.

Mots-clés :

Pharmacogénétique, Pharmacocinétique, Génétique, Modèles non linéaires à effets mixtes, SAEM, Tests, Permutations

Pharmacokinetics studies the time course of a drug in the body. The two tests mainly used in nonlinear mixed effect models to detect a gene effect on a pharmacokinetic parameter are i) a Wald test to assess whether estimates for the gene effect are significant and ii) a likelihood ratio test (LRT) between the model with and without the covariate. We assessed the Wald test and the LRT through a simulation study inspired from real data using an exact estimation algorithm, SAEM. We also compared the correction by means of simulations and its non parametric alternative, the permutation test. On data sets with few patients and unbalanced genotypes, we observe inflated type I error for the mostly used tests. A correction method is thus required. The permutation of the vector of genotypes seems appropriate as long as the estimation algorithm ensures reasonable computing times and/or no numerical difficulties.

Keywords:

Pharmacogenetics, Pharmacokinetics, Genetics, Nonlinear mixed effects models, SAEM, Tests, Permutations

Introduction

La pharmacocinétique (PK) étudie le devenir du médicament dans l'organisme au cours du temps. L'utilisation des modèles non linéaires à effets mixtes (MNLEM) pour l'analyse de données PK permet d'intégrer la connaissance a priori sur la PK du médicament et de quantifier la variabilité interindividuelle pour un nombre restreint de prélèvements par patient. La pharmacogénétique étudie la relation entre cette variabilité interindividuelle et les polymorphismes génétiques des protéines impliquées dans les mécanismes d'absorption, de transport et de métabolisme du médicament. Les deux principaux tests utilisés aujourd'hui dans les MNLEM permettant de détecter l'existence d'un effet gène sur un paramètre PK sont i) un test de Wald sur les coefficients estimés par le modèle avec la covariable génétique comme par exemple dans l'article de Li et al. (2007) et ii) un test du rapport de vraisemblance (LRT) entre les modèles avec et sans la covariable comme par exemple dans l'étude de Yamasaki et al. (2008). Dans ce travail nous utilisons une approche d'estimation par maximum de vraisemblance et celle-ci n'ayant pas d'expression analytique dans les MNLEM, nous utilisons l'algorithme Stochastic Approximation Expectation Maximization (SAEM) développé par Kuhn et Lavielle (2005). Cet algorithme utilise les méthodes MCMC et une version stochastique de l'algorithme EM pour estimer les paramètres du MLMEM par maximum de vraisemblance. Après cette étape d'estimation, la vraisemblance est approximée par échantillonnage préférentiel comme décrit par Samson et al. (2007) et les erreurs d'estimation sont obtenues par linéarisation du modèle autour de l'espérance conditionnelle des paramètres individuels.

Ce travail est motivé par l'analyse des données de la sous-étude PK sur l'indinavir réalisée chez 40 patients infectés par le VIH-1 naïfs de traitement et recevant de l'indinavir plus du ritonavir dans l'essai COPHAR2-ANRS 111 présenté dans l'article de Duval et al. (2008). Pour l'étude PK, réalisée après quinze jours de traitement, quatre prélèvements ont été recueillis à 1, 3, 6 et 12h après administration. Les patients ont aussi été génotypés pour 5 polymorphismes : ABCB1 exon 26 et 21, *CYP3A5**3, *CYP3A5**6 et *CYP4A**1B.

Objectifs

Nos objectifs sont d'évaluer le test de Wald et le LRT pour la détection d'un effet gène sur un paramètre PK, de déterminer la place du test de permutation dans ce contexte et d'appliquer nos conclusions à l'analyse des données d'indinavir.

Etude de simulation

Nous avons évalué le test de Wald et le LRT en termes d'erreur de type I et de puissance par une étude de simulation inspirée des données réelles. Les paramètres du modèle MNLEM simulé sont issus d'une analyse préliminaire des données réelles décrite dans l'article de Bertrand et al. (2008). La distribution et l'effet des polymorphismes simulés sur un des paramètres du modèle sont inspirés des exons 26 et 21 du gène ABCB1, soit pour l'exon 26 : 25% d'homozygotes sauvages, 50% d'hétérozygotes et 25% d'homozygotes mutants. Sous l'hypothèse nulle d'absence d'effet génétique (H_0), 1000 jeux de données ont été simulés avec $N=40$ sujets et $n=4$ prélèvements comme dans l'essai, puis 1000 jeux

de données ont été simulés avec un plan d'expérience proche de conditions asymptotiques de $N=200$ sujets et $n=4$ prélèvements. Sous l'hypothèse alternative d'un effet génétique (H_1), 1000 jeux de données ont été simulés avec $N=40$ sujets et $n=4$ prélèvements.

Chaque jeu de données est analysé avec l'algorithme SAEM implémenté dans le logiciel MONOLIX 2.1. La convergence de l'algorithme est observée sur tous les jeux de données étudiés. On observe pour le test de Wald et le LRT sur le plan d'expérience avec 40 sujets des erreurs de type I légèrement augmentées valant respectivement 8.9 et 7.6%. Cette inflation disparaît sur le plan d'expérience avec 200 sujets, on observe alors des erreurs de type I de respectivement 5.1 et 5.9%.

Afin de revenir à un seuil nominal de 5%, l'approche par permutation, dont une présentation synthétique peut être trouvée dans le livre de Manly (1998), représente une alternative robuste à la correction basée sur des simulations sous H_0 d'après un modèle. Pour évaluer cette alternative, nous avons analysé 200 jeux de données sous H_0 puis 200 jeux de données sous H_1 pour le design à 40 patients. Sur l'ensemble des 200 jeux de données, l'erreur de type I et la puissance du test de Wald et du LRT sont déterminées d'une part en se référant à la loi théorique, d'autre part en utilisant un seuil de significativité déterminé par simulation ou par permutation. Pour le test de permutation, sur chacun des 200 jeux de données de l'étude le vecteur d'observations original est associé à 1000 permutations aléatoires du vecteur de génotypes puis le test est réalisé sur ces 1000 combinaisons ainsi que sur la combinaison originale.

Pour 200 jeux de données, l'intervalle de prédiction à 95% correspondant à un seuil nominal de 5% est [2%–8%]. Les erreurs de type I estimées pour le test de Wald et le LRT sont de 5 et 6.5% pour l'approche de simulation et de 6 et 7%, respectivement pour l'approche par permutation. Pour les deux tests, les puissances corrigées par simulation ou par permutation sont équivalentes et d'environ 70%.

Application aux données réelles

La cinétique de l'indinavir dans l'essai COPHAR2-ANRS 111 a été analysée avec un modèle à un compartiment d'absorption et d'élimination d'ordre 1. La construction du modèle de covariables a été réalisée par LRT avec une étape de sélection ascendante suivie d'une sélection descendante. Pour corriger l'inflation de l'erreur de type I du LRT observée lors de l'étude de simulation, les valeurs de p lors de la sélection descendante ont été corrigées par permutation. Dans cette étude, la constante d'absorption de l'indinavir est diminuée de 70% chez les patients homozygotes mutants pour le polymorphisme du *CYP3A4* ($p=0.04$).

Conclusion

Les MNLEM sont des outils adaptés à l'analyse des études pharmacogénétiques qui sont réalisées sur des patients où peu de prélèvements peuvent être recueillis. L'algorithme SAEM permet d'éviter la linéarisation du modèle et d'obtenir rapidement des estimations. Sur des échantillons de peu de patients avec une répartition déséquilibrée des génotypes, on observe une inflation de l'erreur de type I des tests asymptotiques communément

employés. Il est nécessaire alors d'employer une méthode de correction et l'approche par permutation du vecteur des données génétiques semble une bonne solution, applicable lorsque l'algorithme d'estimation ne pose pas de limites en termes de convergence et/ou de temps de calcul.

Bibliographie

- [1] Bertrand, J., Comets, E., Mentre, F. (2008) Comparison of model-based tests and selection strategies to detect genetic polymorphisms influencing pharmacokinetic parameters, *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 18, 1084-1102.
- [2] Duval, X., Mentré, F., Rey, E., Auleley, S., Peytavin, G., Biour, M., Métro, A., Goujard, C., Taburet, A.M., Lascoux, C., Panhard, X., Tréluyer, J.M., Salmon, D. (2008) Benefit of Therapeutic Drug Monitoring of Protease Inhibitors in HIV-Infected Patients Depends on PI used in HAART Regimen - ANRS 111 trial, *Fundamental and Clinical Pharmacology*, in press.
- [3] Kuhn, E., Lavielle, M. (2005) Maximum likelihood estimation in nonlinear mixed effects models, *Computational Statistics and Data Analysis*, 49, 1020–1038.
- [4] Li, D., Lu, W., Zhu, J.Y., Gao, J., Lou, Y.Q. et Zhang, G.L. (2007) Population pharmacokinetics of tacrolimus and CYP3A5, MDR1 and IL-10 polymorphisms in adult liver transplant patients, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 32, 505–515.
- [5] Manly, B.F.J. (1998) *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*, Chapman & Hall, London.
- [6] Samson, A., Lavielle, M., Mentré, F. (2007) The SAEM algorithm for group comparison tests in longitudinal data analysis based on non-linear mixed-effects model, *Statistics in Medicine*, 26, 4860-4875.
- [7] Yamasaki, Y., Ieiri, I., Kusuhara, H., Sasaki, T., Kimura, M., Tabuchi, H., Ando, Y., Irie, S., Ware, J.A., Nakai, Y., Higuchi, S. et Sugiyama, Y. (2008) Pharmacogenetic Characterization of Sulfasalazine Disposition Based on NAT2 and ABCG2 (Bcrp) Gene Polymorphisms in Humans, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 84, 95–103.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le professeur Marc Lavielle pour son aide dans l'utilisation du logiciel MONOLIX.

Durant ce travail Céline M. Laffont travaillait en tant que pharmacométricienne à l'Institut de Recherches Internationales Servier. Julie Bertrand est financée par une bourse de l'Institut de Recherches Internationales Servier.